SUMMARY

The paper presents results of studying immunobiological properties of mono- and bivalent vaccines against rabbit pasteurellosis produced from formalin-inactivated bacteria Pasturella multocida (serovars A:1 and A:3). Blood sera obtained from animals, immunized by monovalent vaccines, were positive in the precipitation test only with homologous antigens. Animals, immunized by monovalent vaccines against pasteurellosis, were protected only if a homologous strain was used for inoculation. Two different serovariants of P. multocida commonly isolated from rabbits increase the preventive efficiency of the bivalent vaccine if they are used in its composition.

Литература

1. Заерко, В.И. Разработка и внедрение универсальной технологии изготовления, контроля и применения вакцин против пастереллеза животных: дис. в форме науч. докл… д-ра вет.наук / Заерко В.И. М., 2000. С. 35.
2. Ручнова, О.И. Определение антигенного родства изолятов Pasteurella multocida, выделенных на территории Российской Федерации / О.И. Ручнова, О.В. Прунтова // Вет. патология. 2006. №4 (19). С. 113-115.
3. Brogden, K.A. Comparison of Pasteurella multocida serotyping sistems / K. A. Brogden, R. A. Packer // Am. J. Vet. Res. 1979. Vol. 40, №9. P. 1332-1335.
4. Carter, G.R. The preparation and use of vaccines for the prevention of pasteurellosis / G. R. Carter // Can. Vet. J. 1961. N 2. P. 96.
5. Heddleston, K.L. Fowl cholera: gel diffusion precipitin test for serotyping Pasteurella multocida from a viam species / K. L. Heddleston, J. E. Galanter, P. A. Rebers // Avian Dis. 1972. Vol.16. P.925-935.
6. Killian, N. Haemophilus, Pasteurella and Actinobacillus / N. Killian. London: Acad. Press, 1981. P. 293.
7. Percy, D.H. Experimental pneumonia in rabbits inoculated with strains of P. multocida / D. H. Percy, J. L. Bhasin, S. Rosendal // Can. J. Vet. Res. 1986. Vol. 50, №1. P. 36-41.
8. Rimler, R.B. Lipopolisacharides of the Heddleston serotypes of Pasteurella multocida / R. B. Rimler, P. A. Rebers, M. Phillips // Am. J. Vet. Res. 1984. Vol. 45. P. 759-763.
9. Rimler, R.B. Pasteurella multocida isolated from rabbit and swine: serologic types and toxin production / R. B. Rimler, K. A. Brogden // Am. J. Vet. Res. 1986. Vol. 47. P. 730-737.
10. Rimler, R.B. Pasteurella and pasteurellosis / R. B. Rimler, K. R. Rhoades. London: Acad. Press, 1989. P. 37-73.
11. Sokkar, S.M. Pathogenesis of P. multocida in experimentally infected rabbits / S. M. Sokkar, M. A. Mohamed, H. Fetaih // Arch. Exp. Vet. Med. 1987. Bd. 41, № 4. S. 516-521.

УДК 619:616.98:579.843.95:615.91

А.В. Потехин, Ф.А. Ширяев, О.В. Бородина

ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ РАЗЛИЧНЫХ АДЪЮВАНТОВ В СОСТАВЕ ВАКЦИН ПРОТИВ ПАСТЕРЕЛЛЕЗА КРОЛИКОВ

Введение

Пастереллез, наряду с вирусной геморрагической болезнью, миксоматозом и кокцидиозом, является опасным инфекционным заболеванием кроликов, наносящим существенный экономический ущерб коммерческим кролиководческим хозяйствам, а также питомникам и вивариям, занимающимися разведением и выращиванием животных для научных исследований. Заболевание характеризуется широким распространением бактерионосительства, поэтому инфекция может возникать в хозяйстве и без заноса возбудителя извне (эндогенный пастереллез) [1, 9, 10].

Пастереллез кроликов вызывают бактерии *P. multocida* серогрупп А, В и D, при этом течение и исход заболевания во многом зависят от вирулентности возбудителя. Причиной сверхострой (септической) формы пастереллеза в основном являются пастереллы серогруппы В, однако данная форма заболевания не имеет широкого распространения. Наиболее часто при остром течении заболевания от животных изолируют бактерии серогруппы А, а при хронических процессах возможно выделение пастерелл серогрупп А и D в ассоциации [7, 9, 10, 11].

Основными звеньями в системе мер борьбы с пастереллезом кроликов являются: устранение из стада пастереллоносителей и вакцинация здоровых животных.

Для специфической профилактики пастереллеза кроликов широко используют инактивированные вакцины, приготовленные из убитых бактерий, но наряду с этим имеются и живые вакцины на основе аттенуированных стрептомицин-зависимых штаммов *P. multocida*. Для усиления иммуногенности инактивированных вакцин используют адъюванты [1, 4].

По данным Департамента ветеринарии МСХ РФ пастереллез кроликов наиболее

часто регистрируется в Ставропольском и Краснодарском краях, а также в Ростовской и Астраханской областях.

В настоящее время в нашей стране для профилактики пастереллеза кроликов применяют инактивированную формолвакцину, где в качестве адъювантa используется микробиологический агар. Однако, несмотря на проведение специфической профилактики, эпизоотическая ситуация по пастереллезу кроликов остается напряженной [1].

Целью данной работы было изучение протективных свойств моновалентных вакцин против пастереллеза кроликов, приготовленных из инактивированных формалином бактерий *P. multocida* (серовар А:3) и различных адъювантов.

Материалы и методы

Бактериальные штаммы. В работе использовали штамм *Pasteurella multocida* №1231 (серовар А:3 по классификации Картера-Хеддлестоуна) [2], полученный из музея бактериальных культур ФГУ «ВГНКИ». Штамм является вирулентным, значение LD_{50} для белых мышей составляет 15±5 колониеобразующих единиц (КОЕ).

Животные. Исследования проводили на 52 кроликах, массой 1,5-2,0 кг, серонегативных к пастереллезу.

Вакцины. Для приготовления антигена использовали 18-часовую культуру пастерелл, выращенную на кровяном агаре, при температуре 37° С, которую смывали фосфатно-буферным раствором с рН 7,4. Для инактивации пастерелл в бактериальную суспензию добавляли 0,2% формалина. Концентрацию микробных клеток определяли по стандарту мутности ГИСК им. Тарасевича. Антиген смешивали с масляными адъювантами Montanide ISA-25, ISA-70, IMS-2215 фирмы «SEPPIC» (Франция), эмульсигеном фирмы «MLV Laboratories» (США) в пропорциях, рекомендуемых фирмами-изготовителями. Для приготовления сорбированной гидроокисьалюминиевой (ГОА) вакцины к антигену добавляли 30% шестипроцентного геля гидроокиси алюминия. В «агаровой» вакцине количество агар-агара составляло 0,3%. Концентрация антигена во всех вакцинах была $2x10^9$ м.к./см^3.

Серологические исследования. От всех животных брали кровь для исследований сывороток до вакцинации, через 3 недели после первой и через 3 недели после второй вакцинации. Для определения наличия противопастереллезных антител использовали реакцию преципитации (РП) в агаровом геле, которую выполняли по методике К. Хеддлестоуна [3, 4].

Ход эксперимента. Каждую вакцину вводили в профилактической и трёхкратно превышающей дозе, подкожно в область бедра, двукратно – с интервалом 3 недели. В каждой группе использовали по 4 кролика. Профилактические дозы вакцины с масляными адъювантами Montanide ISA-25, ISA-70 и эмульсигеном составляли 0,5 см^3; с адъювантом Montanide IMS-2215, ГОА, агаром и без адъюванта – 1,0 см^3. После каждой вакцинации наблюдали за клиническим состоянием животных, измеряли температуру тела и учитывали местные поствакцинальные реакции.

Через 3 недели после второй вакцинации всех животных заражали суспензией штамма *P. multocida* №1231 с концентрацией $4x10^9$ КОЕ/см^3 интраназально в дозе 0,5 см^3. За кроликами наблюдали в течение 3 недель с момента контрольного заражения, после чего подвергали эвтаназии и проводили патологоанатомическое, патологогистологическое и бактериологическое исследования.

Результаты исследований

Все испытуемые образцы вакцин были безвредны для животных и не обладали пирогенными свойствами. Незначительное увеличение регионарных лимфатических узлов отмечали после инъекции вакцины с гелем гидроокиси алюминия и агаром.

В таблице представлены результаты реакции преципитации в агаровом геле по обнаружению специфических антител в сыворотках крови кроликов к соматическим антигенам *P. multocida* серовара А:3. До иммунизации все исследуемые в РП сыворотки были отрицательными. Через 3 недели после первой вакцинации положительную реакцию преципитации наблюдали у большинства животных. Спустя 21 день после второй вакцинации все кролики были серопозитивными, за исключением двух животных, привитых бактериальным антигеном без адъюванта.

Результаты, представленные в таблице, показывают, что все кролики контрольной группы пали через 6-8 дней после заражения. Кроме того, в группе иммунизированных животных через 10 суток пал 1 кролик (иммунизированный ГОА вакциной в дозе 1,0 см^3), два кролика – через 12 и 14 дней (иммунизированных агаровой вакциной в дозе 1,0 см^3) и 3 кролика – через 8-10 суток (иммунизированных вакциной без адъюванта в дозе 1,0 см^3).

Таблица

Эффективность образцов вакцин против пастереллеза кроликов с различными адъювантами

Адъювант	Доза вакцины, мл	Результаты серологических исследований			Гибель животных после заражения
		до вакцинации	через 3 недели после первой вакцинации	через 3 недели после второй вакцинации	
Montanide ISA-25	0,5	0*	3*	4*	0/4**
	1,5	0	4	4	0/4
Montanide ISA-70	0,5	0	4	4	0/4
	1,5	0	4	4	0/4
Montanide IMS-2215	1,0	0	2	4	0/4
	3,0	0	4	4	0/4
Эмуль-сиген	0,5	0	4	4	0/4
	1,5	0	4	4	0/4
ГОА	1,0	0	2	4	1/4
	3,0	0	4	4	0/4
Агар	1,0	0	1	4	2/4
	3,0	0	4	4	0/4
Без адъ-юванта	1,0	0	0	2	3/4
	3,0	0	4	4	1/4
Контроль	-	0	0	0	4/4

* – количество положительно реагирующих животных;
** – количество положительно реагирующих животных/общее количество животных

При патологоанатомическом вскрытии павших животных существенные изменения наблюдали в органах респираторной системы. Легкие были темно-красного цвета, с большими участками плотной консистенции. Костальная и легочная плевры были покрыты нитями фибрина. Во всех случаях наличие фибрина обнаруживали в экссудате плевральной полости. На всем протяжении просвета трахеи обнаруживали густую слизь, иногда с примесью крови. У иммунизированных кроликов после заражения легкие были розового или светло-красного цвета.

Гистопатологические исследования измененных легких от павших животных показали стертую альвеолярную структуру. Альвеолы были заполнены серозным экссудатом, эритроцитами и нейтрофилами. Часто в пульмональных сосудах обнаруживали обтурирующие тромбы.

Микроскопические изменения в легких иммунизированных животных ограничивались фокальной лимфоидно-клеточной инфильтрацией вокруг бронхов и бронхиол.

С помощью бактериологических исследований из органов всех павших кроликов выделяли исходный штамм *P. multocida*. От вынужденно убитых иммунизированных животных удалось изолировать пастереллу только из смывов носовой полости.

Выводы

1. Результаты проведенных исследований выявили более высокую протективную активность образцов вакцин против пастереллеза кроликов, изготовленных на основе масляных адъювантов серии Montanide и эмульсигена.

2. Инактивированные вакцины против пастереллеза кроликов, изготовленные на основе масляных адъювантов, обеспечивают надежную защиту животных при контрольном заражении, однако не способствуют элиминации возбудителя со слизистой оболочки носоглотки. Через 21 день (срок наблюдения) после заражения удается выделить пастереллу из смывов носовой полости.

РЕЗЮМЕ

В работе представлены результаты исследований протективной активности моновалентных вакцин против пастереллеза кроликов, приготовленных из инактивированных формалином бактерий Pasteurella multocida (серовар А:3) с использованием различных адъювантов. Все испытанные образцы вакцин были безвредны для животных и обеспечивали выработку специфических антител (преципитинов). При экспериментальном заражении кроликов вирулентным штаммом пастерелл наиболее высокую протективную активность показали образцы вакцин, изготовленные на основе масляных адъювантов серии Montanide и эмульсигена.

SUMMARY

The paper presents the results of determination of protective activity of monovalent vaccines against rabbit pasteurellosis prepared from formalin-inactivated bacteria P. multocida (serovar A:3) and different adjuvants. All tested vaccine samples were safe for animals and induced specific antibodies (precipitins). Vaccine samples produced on the basis of Montanide oil.

Литература

1. Заерко, В.И. Разработка и внедрение универсальной технологии изготовления, контроля и применения вакцин против пастереллеза животных: дис. в форме науч. докл… д-ра вет.наук. / Заерко В.И. М., 2000. С. 35.
2. Ручнова, О.И. Определение антигенного родства изолятов Pasteurella multocida, выделенных на территории Российской Федерации / О.И. Ручнова, О.В. Прунтова // Ветеринарная патология.- 2006. №4 (19). С. 113-115.
3. Brogden, K.A. Comparison of Pasteurella multocida serotyping sistems / K. A. Brogden, R. A. Packer // Am. J. Vet. Res. 1979. Vol. 40, №9. P. 1332-1335.
4. Carter, G.R. The preparation and use of vaccines for the prevention of pasteurellosis / G. R. Carter // Can. Vet. J. 1961. N. 2. P. 96.
5. Heddleston, K.L. Fowl cholera: gel diffusion precipitin test for serotyping Pasteurella multocida from a viam species / K. L. Heddleston, J. E. Galanter, P. A. Rebers // Avian Dis. 1972. Vol. 16. P. 925-935.
6. Killian, N. Haemophilus, Pasteurella and Actinobacillus / N. Killian. London: Academic Press, 1981. P.293.
7. Percy, D.H. Experimental pneumonia in rabbits inoculated with strains of P. multocida / D. H. Percy, J. L. Bhasin, S. Rosendal // Can. J. Vet. Res. 1986. Vol. 50, №1. P. 36-41.
8. Rimler, R.B. Lipopolisacharides of the Heddleston serotypes of Pasteurella multocida / R. B. Rimler, P. A. Rebers, M. Phillips // Am. J. Vet. Res. 1984. Vol. 45. P. 759-763.
9. Rimler, R.B. Pasteurella multocida isolated from rabbit and swine: serologic types and toxin production / R. B. Rimler, K. A. Brogden // Am. J. Vet. Res. 1986. Vol. 47. P. 730-737.
10. Rimler, R.B. Pasteurella and pasteurellosis / R. B. Rimler, K. R. Rhoades. London: Academic Press, 1989. P. 37-73.
11. Sokkar, S.M. Pathogenesis of P.multocida in experimentally infected rabbits / S. M. Sokkar, M. A. Mohamed, H. Fetaih // Arch. exp. Vet. Med. 1987. Bd. 41, № 4. S. 516-521.

УДК 619:616.98:579.843.95:636.92

Ф.А. Ширяев, А.В. Потехин, О.В. Бородина

ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ У КРОЛИКОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПАСТЕРЕЛЛЕЗЕ

Введение

Пастереллез кроликов – острое инфекционное заболевание, характеризующееся септицемией и воспалением органов дыхания. Возбудитель (*Pasteurella multocida*) по культуральным и серологическим свойствам идентичен пастереллам, выделяемым от сельскохозяйственных животных и птицы. Заболевание широко распространено и наносит значимый экономический ущерб кролиководческим хозяйствам [1, 9, 10].

Диагноз на пастереллез, как и на многие другие инфекции, ставят на основании комплекса эпизоотологических, клинических, патолого-анатомических данных с обязательным проведением бактериологического исследования и заражения лабораторных животных. Постановка диагноза на пастереллез кроликов при положительных результатах бактериологического анализа не представляет трудностей [6, 10]. Однако при остром течении инфекционного процесса, когда заболевание в короткий срок (в течение 1-3 дней) охватывает большое количество животных и сопровождается высокой смертностью (30-90%), а клинические признаки и данные патолого-анатомического вскрытия могут быть не характерными для пастереллеза, возникает проблема ранней диагностики данного заболевания [1, 9].

Большое значение в клинической практике имеют гематологические исследования, поскольку любые изменения в организме сопровождаются определенными изменениями в крови. Гематологический анализ позволяет судить о ходе инфекционного процесса, появлении осложнений и дает возможность предсказать исход заболевания [2, 3, 4].

Известно, что развитие патологического процесса при пастереллезе кроликов ведет, как правило, к сепсису. Вместе с тем характер воспалительного процесса не может быть стереотипным, он определяется особенностями взаимодействия между микроорганизмами и макроорганизмом. В частности, большую роль в патогенезе пастереллеза играют эндо- и экзотоксины возбудителя [7, 8, 11], способные вызвать стойкие изменения в крови больных животных. Поэтому целью нашей работы было изучение изменений со стороны крови у кроликов при пастереллезе.

Материалы и методы

Штаммы бактерий. В работе использовали штамм *P. multocida* №1231, полученный из коллекции бактериальных культур